

Mtra. María Elena Contreras Garfias
Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud
PRESENTE



Por este medio le informo del término del Servicio Social, cuyos datos son los siguientes :

Fecha de Recepción	Día	Mes	Año	Fecha de Aprobación	Día	Mes	Año
--------------------	-----	-----	-----	---------------------	-----	-----	-----

Datos del Alumno

Nombre : Daniel Rivera Tlaltzicapa	
Matrícula : 2133026330	Licenciatura : Química Farmacéutica Biológica
Domicilio : Calle Marino Sanchez 83	
Teléfono : 7393952800	Celular : 7773750668
Correo Electrónico : dany.26.11.93@gmail.com	CURP : RITD931126HMSVLN06

Datos del Proyecto

Nombre del Proyecto : Asociación del SNP rs1143623 del gen IL-1β en el diagnóstico oportuno de gota							
Lugar donde se realizó el Servicio Social : Instituto Nacional de Rehabilitación							
Dependencia : Publica							
Entidad Federativa : Distrito Federal							
Municipio : Tlalpan	Localidad : Calzada México Xochimilco No. 289, Colonia Arenal de Guadalupe						
Fecha de Inicio	Día	Mes	Año	Fecha de Término	Día	Mes	Año
	28	1	2019		24	1	2020

PARA SER LLENADO POR LOS ASESORES

Sector: 3.- Público	Tipo: 1.- Externo
Orientación: 8.- Salud, Alimentación Y Nutrición	

FIRMAS

Jorge Ismael Castañeda Sánchez 37622

Asesor Interno
Nombre, firma y No. Económico

María del Refugio Denise Clavijo Cornejo

Asesor Externo
Nombre, firma y No. Económico

Daniel Rivera Tlaltzicapa

Alumno
Nombre, firma

Vo. Bo. de la Comisión
Nombre y firma de la persona que autoriza
Dra. María Angélica Gutiérrez Nava



"2019, AÑO DEL CAUDILLO DEL SUR, EMILLANO ZAPATA"

Ciudad de México, a 29 de julio de 2019

INRLGII/DES/CSS/29/07/2019

ASUNTO: Término Servicio Social

MTRO. JESÚS OBDULIO LOPEZ MURILLO
COORDINADOR DIVISIONAL DE SERVICIO SOCIAL
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
P R E S E N T E

Por este conducto informo a usted que la **C. RIVERA TLALZICAPA DANIEL**, alumno de la carrera de Química Farmacéutica Biológica, con número de matrícula: **2133026330**, concluyó satisfactoriamente su **Servicio Social**, en este **INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN LGII**, en el Área de Investigación dentro del programa: "*Neurofarmacología y Neuroquímica en Modelos Experimentales*", bajo la supervisión del Dr. Alfonso Alfaro. Durante el periodo comprendido del **28 de enero a 29 de julio de 2019**, con un horario de lunes a viernes. Cubriendo un total de 480 hrs.

Sin otro particular, hago propicia la ocasión para enviar un cordial saludo.

ATENTAMENTE


DRA. MATILDE L. ENRIQUEZ SANDOVAL
DIRECTORA DE EDUCACIÓN EN SALUD



MLES/GGV/DSL/MPS/mps*



Ciudad de México a 25 de agosto del 2021

MTRA. MARIA ELENA CONTRERAS GARFIAS


**COORDINADORA DIVISIONAL DE SERVICIO SOCIAL
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

P R E S E N T E

Por medio de la presente, hago constar que el alumno Daniel Rivera Tlaltzicapa, con matrícula 2133026330, concluyó de manera satisfactoria su servicio social titulado "Asociación del SNP rs1143623 del gen IL-1 β en el diagnóstico oportuno de gota" el cual se desarrolló en la División de Enfermedades Musculoesqueléticas y Reumáticas localizado en el piso 0 de la Torre de Investigación del Instituto Nacional de Rehabilitación "Luis Guillermo Ibarra Ibarra". El alumno concluyó con un total de 480 horas bajo mi asesoría en el período comprendido del 28 de enero del 2019 al 27 de julio del 2019.

Agradeciendo de antemano su atención a la presente, le envío un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E


Dra. María del Refugio Denise Cornejo Clavijo
Investigadora en Ciencias Médicas C
Cédula profesional 11192323



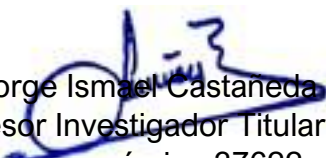
Ciudad de México, 25 de agosto del 2021

MTRA. MARÍA ELENA CONTRERAS GARFIAS
DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
P R E S E N T E

Por medio de la presente me permito comunicar a usted que el alumno **Daniel Rivera Tlaltzicapa** con matrícula **2133026330** de la Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica, concluyó su proyecto de Servicio Social: “**Asociación del SNP rs1143623 del gen IL-1 β en el diagnóstico oportuno de gota**”, que se realizó en el Instituto Nacional de Rehabilitación “Luis Guillermo Ibarra Ibarra”, División de Enfermedades Musculoesqueléticas y Reumáticas, piso 0 de la Torre de Investigación, del 28 de enero al 27 de julio del 2019 bajo mi asesoría cubriendo un total de 480 horas.

Agradeciendo de antemano su atención a la presente, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE


Dr. Jorge Ismael Castaneda Sánchez
Profesor Investigador Titular T.C.
Número económico 37622
jcastanedas@correo.xoc.uam.mx



**Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Departamento de Sistemas Biológicos**

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Presenta:

Daniel Rivera Tlaltzicapa

Matrícula: 2133026330

Proyecto:

Asociación del SNP rs1143623 del gen IL-1 β en el diagnóstico oportuno de gota.

Proyecto genérico correspondiente:

Evaluación de productos relacionados con la salud.

Etapas: Desarrollo de reactivos analíticos y de diagnóstico

Asesor Externo: Dra. María del Refugio Denise Clavijo Cornejo

Asesor Interno: Dr. Jorge Ismael Castañeda Sánchez

Lugar de realización:

**División de Enfermedades Musculoesqueléticas y Reumáticas, piso 0 de la Torre
de Investigación del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra.**

Tel: 5559991000 ext. 19113.

Fecha de inicio: 28 de enero del 2019

Fecha de término: 24 de enero del 2020

Teléfono: 777350668

Correo: dany.26.11.93@gmail.com

Fecha: 19/08/2021

ÍNDICE

1. Vinculación con el perfil profesional	4
2. Resumen	4
3. Introducción	5
3.1 Gota	5
3.3 El papel de los CUMS en la gota.....	5
3.4 Manifestaciones clínicas	5
3.5 Diagnostico	6
3.6 Diagnostico radiográfico	6
3.7 Tratamiento	6
3.8 NRLP3 Inflamasoma.....	6
3.9 El papel de la IL-1 β	7
3.10 Polimorfismos de un solo nucleótido	8
3.11 Equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE).....	8
3.12 Razón de momios.....	9
4. Justificación.....	10
5. Objetivos	10
5.1 Objetivo general	10
6. Métodos.....	10
6.1 Reclutamiento de pacientes.....	10
6.2 Procesamiento de muestras	11
6.3 Extracción de DNA	11
6.4 Selección del SNP rs1143623 del gen IL-1 β	12
6.5 Genotipificación y discriminación alélica.....	12
7. Análisis estadístico	13
8. Resultados	13
8.1 Descripción de la población de estudio	13
8.2 Frecuencias genotípicas y alélicas.	14
8.3 Regresión logística multivariada por genotipos y alelos.	15
8.3.1 Modelo Codominante.....	15
8.3.2 Modelo Dominante	15
8.3.3 Modelo Recesivo	15
9. Discusión de resultados.....	16
10. Conclusión	17
11. Referencias	17
12. Anexos.....	20

12.1 Aprobación por el Comité de Investigación del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra	20
12.2 Consentimiento informado	22
13. Vo.Bo.	25

1. Vinculación con el perfil profesional

El proyecto de servicio social que se plantea está estrechamente ligado al perfil profesional en el área de biología molecular e inmunología molecular, aborda la importancia del estudio de la asociación de variantes genéticas, con el desarrollo de la gota como enfermedad crónica, un aspecto clave y de amplia relevancia para el desarrollo de nuevas dianas aplicadas a la terapéutica molecular.

2. Resumen

La gota es una enfermedad causada por el depósito de cristales de urato monosódico (CUMS), se caracteriza por presentar dolor articular, enrojecimiento, hinchazón e incremento de la temperatura de las zonas afectadas (Robinson PC., 2018). El evento central de la inflamación en la gota se debe a la activación de los leucocitos por la presencia de CUMS. (Szekanecza Z, 2019). La prevalencia de la gota es de 8.4 por cada 1000 habitantes de todas las edades. (Pelaéz-Ballestas, 2011). Los CUMS juegan un papel importante en la activación del sistema inmune innato y el reconocimiento de la gota como un trastorno autoinflamatorio. La activación de mediadores moleculares como el inflamasoma NOD-like Receptor Pyrin containing 3 (NLRP3), genera un aumento en la producción de mediadores bioquímicos involucrados en los procesos inflamatorios tales como la interleucina-1 β (IL-1 β). La interleucina 1 (IL-1) es una citocina endógena involucrada en la respuesta inmune y la inflamación. La IL-1 β participa en la inflamación, pero lo que es más importante, induce la expresión de genes proinflamatorios, como la ciclooxigenasa tipo 2, la óxido nítrico sintasa inducible y otras citocinas/quimiocinas. Los estudios actuales se enfocan principalmente en la asociación entre los polimorfismos del gen IL-1 β (Zuo X, 2018). Actualmente la atención se ha concentrado en los Polimorfismos de un Solo Nucleótido (del inglés Single Nucleotide Polymorphisms, SNP). Un SNP en regiones codificantes puede representar un cambio en la secuencia de una proteína, y con ello alterar su función, o bien puede no cambiar su secuencia, por ejemplo, el polimorfismo en la región reguladora del gen de la citocina puede alterar su nivel de expresión asociado con la respuesta inmune (Hernández-Romano J, 2009). En la actualidad sabemos que la gota es una patología que surge por múltiples causas, donde el factor genético ha cobrado mayor relevancia en los últimos años; sin embargo, aún se desconocen las variantes genéticas (como los SNP) que están asociadas en el desarrollo de esta enfermedad. En este estudio se pretende identificar la asociación del SNP rs1143623 del gen IL-1 β con el desarrollo de la gota, incluye a 463 individuos de 20 estados diferentes, de los cuales el 68% pertenecen a la zona centro del país (Querétaro, Hidalgo, Ciudad de México, México, Tlaxcala y Morelos). El análisis estadístico del polimorfismo rs1143623 del gen IL-1 β está basado en la estimación de la prevalencia de cada alelo en la población y haciendo la estimación para cada genotipo posible. Para estimar las frecuencias genotípicas, se calculó la tasa observada de los genotipos. En este estudio se analizó el SNP rs1143623 del gen de IL-1 β , el cual se genera como resultado de la activación de la vía de señalización del inflamasoma NLRP3.

3. Introducción

3.1 Gota

La gota es una enfermedad causada por el depósito de cristales de urato monosódico (CUMS) en las zonas articulares y tejidos blandos, se caracteriza por presentar dolor articular, enrojecimiento, hinchazón e incremento de la temperatura de las zonas afectadas (Robinson PC., 2018).

Es precedida por altos niveles de ácido úrico (AU) a nivel sérico, en las mujeres se estima por arriba de 6.5 mg/dL y en los hombres por encima de 7mg/dL.

El uso de diuréticos, enfermedades renales, obesidad, trasplantes, psoriasis y consumo excesivo de alcohol, pueden generar un aumento en los niveles del AU sérico, por lo tanto, pueden ser otros factores para el desarrollo de hiperuricemia y gota clínica (Drivelegka P., 2018).

3.2 Epidemiología

La prevalencia de la gota es de 8.4 por cada 1000 habitantes de todas las edades. Esto corresponde a un estimado de 2.1 millones de casos de gota en los Estados Unidos de Norteamérica: 1.56 millones de hombres y 550 mil mujeres (Prevención, diagnóstico, tratamiento y referencia oportuna de hiperuricemia y gota, 2009). Durante el segundo conteo de población y vivienda en el año 2005, realizado por el INEGI se contaron 103,263,388 habitantes en México, por lo que puede estimarse una incidencia de 867,412 personas con gota en nuestro país, la cual se presenta de manera predominante sobre los hombres en relación a las mujeres con un estimado de 0.5% vs 0.1%, esto representaría un número de casos aproximados en hombres de: 693,929.6 gota y en mujeres: 173,482.4 (Pelaéz-Ballestas, 2011).

3.3 El papel de los CUMS en la gota

El AU (2,6,8-trihidroxipurina) es el producto final del metabolismo de las purinas que comprende la oxidación de las bases púricas de cualquier origen (DNA, RNA, ATP, entre otras) por la Xantina Oxidasa (XO), cuyo papel principal es funcionar como un antioxidante, sin embargo, el exceso de AU y otras condiciones como la temperatura y el pH, llevan a la nucleación de los CUMS (Szekanecza Z, 2019). El evento central de la inflamación en la gota se debe a la activación de los leucocitos por la presencia de CUMS, los cuales actúan como patrones moleculares asociados a daño (DAMP) que son reconocidos por los receptores tipo Toll (TLR, por sus siglas en inglés) como el TLR2 y TLR4, lo cual inicia una compleja vía de señalización (Szekanecza Z, 2019).

3.4 Manifestaciones clínicas

La artritis aguda es la manifestación inicial más frecuente en la gota, comienza afectando una sola articulación, hasta llegar a los tobillos y rodillas, generando alteraciones en los dedos de las manos en fases avanzadas conocidas como nódulos de Heberden o de Bouchard (Ruiz P, 2020).

El primer episodio de artritis gotosa por lo general inicia por la noche con hinchazón importante, hasta que las articulaciones se tornan calientes, enrojecidas y dolorosas al tacto (Jameson JL,

2018). Los episodios iniciales suelen desaparecer en un periodo de 3 a 10 días, teniendo intervalos variables de manera asintomática, hasta el siguiente episodio. La gota en la fase premenopáusica es inusual. Se han descrito grupos familiares de gota temprana en mujeres jóvenes, causada por la menor eliminación renal de uratos por insuficiencia renal (Jameson JL, 2018).

3.5 Diagnostico

El diagnostico estándar se realiza por medio del análisis del líquido sinovial de las articulaciones sintomáticas en las cuales la presencia de CUMS será un indicativo de gota. En ocasiones, la cuantificación de AU en orina de 24 horas permite valorar la posibilidad de cálculos, investigar la producción excesiva o la menor excreción de AU. La excreción de >800 mg de AU durante 24 horas con el consumo de una dieta ordinaria sugiere que hay que pensar en la producción excesiva de purina como causa del problema (González-Rozas M, 2012).

3.6 Diagnostico radiográfico

A demás de los métodos bioquímicos, la ecografía es una herramienta primordial para un diagnóstico oportuno, el cual muestra un signo del doble contorno sobre el cartílago articular que es característico del depósito CUMS. Otros signos radiográficos son erosiones perfectamente definidas con bordes escleróticos y tumoraciones en tejidos blandos (Perez-Ruiz F, 2016).

3.7 Tratamiento

El principio general del manejo de la gota con farmacoterapia se centra en la necesidad de reducir los niveles de urato sérico por debajo de 6.5 mg/dL o 7 mg/dL, dependiendo si es gota tofácea o no tofácea, respectivamente, la gota tofácea es tratada con fármacos para la disminución del urato (p. Ej. Benzbromarona, probenecid, alopurinol como inhibidor de oxidasa de xantina, febuxostat y pegloticase), y pocas veces por extracción quirúrgica (Robinson PC., 2018). El elemento primordial durante un episodio agudo consiste en la administración de antiinflamatorios, colchicina o glucocorticoides (Jameson JL, 2018).

3.8 NRLP3 Inflamasoma

Los CUMS juegan un papel importante en la activación del sistema inmune innato y el reconocimiento de la gota como un trastorno autoinflamatorio. La activación de mediadores moleculares como el inflamasoma NOD-like Receptor Pyrin containing 3 (NLRP3), genera un aumento en la producción de mediadores bioquímicos involucrados en los procesos inflamatorios tales como la Interleucina-1 beta (IL-1 β). El complejo multiproteico del inflamasoma, compuesto por el polipéptido NLRP3, ASC o PYCARD (proteína speck-like asociada a la apoptosis que contiene a CARD8) y la caspasa-1, se forma en los monocitos y macrófagos debido a que los CUMS funcionan como patrones moleculares asociados a daño (DAMP) sirviendo como potentes

activadores del sistema inmune iniciando y perpetuando una respuesta inflamatoria no infecciosa (Denning NL, 2019). La activación de la caspasa-1, incide en la pro-interleucina-1 β generando la activación de la citocina proinflamatoria IL-1 β que es secretada posteriormente. CARD8 (Proteína que Contiene el Dominio de Reclutamiento de la Caspasa 8, también conocido como TUCAN o Cardinal) es una proteína con un dominio de caspasa que interactúa con la caspasa-1 e inhibe su activación y también con un dominio FIIND que se une a NLRP3 evitando su reclutamiento en el complejo inflammasoma activo (McKinney C, 2015). Las variantes genéticas que influyen en la activación y la función de NLRP3 son genes candidatos en la generación de la enfermedad (Figura 1) (Szekanecza Z, 2019).

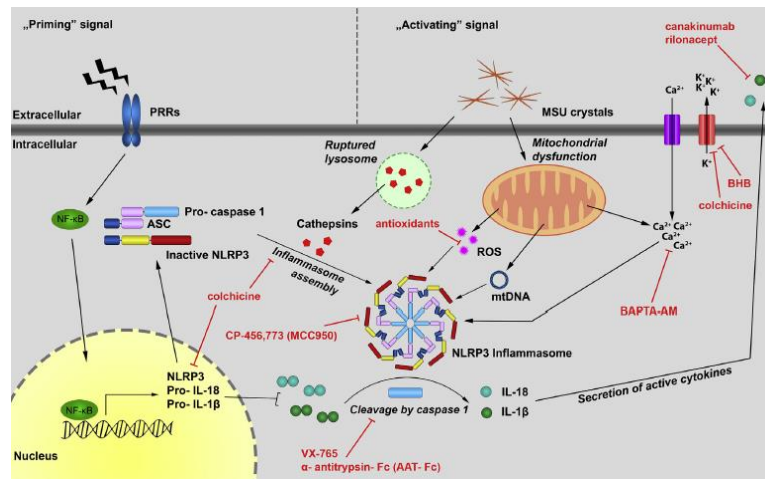


Figura 1. Los CUMS actúan como DAMP, generando la cascada de señalización la cual depende de NLRP3 para formar un complejo multiproteico con CARD8, mientras que la caspasa 1, aumenta la producción de mensajes bioquímicos como IL-1 β . "The NLRP3 inflammasome - interleukin 1 pathway as a therapeutic target in gout" (Szekanecza Z, 2019).

3.9 El papel de la IL-1 β

Las citocinas son moléculas pequeñas producidas por las células en respuesta a estímulos específicos y cambian el comportamiento de la misma célula u otras. Las citocinas multifuncionales están estrechamente relacionadas con el desarrollo de respuestas inflamatorias e inmunológicas que juegan un papel clave en la patogénesis de las enfermedades autoinmunes y malignas (Yu Y, 2019).

La familia de citocinas IL-1 β está codificada por dos genes separados, IL-1 α e IL-1 β que están ubicados dentro de una región 430 kb en el cromosoma 2q14.2 en un grupo y también contienen los genes para los receptores de interleucina (IL-1) tipo 1 y 2 (IL-1R1 e IL-1R2), también conocidos como la regulación clave de la inflamación y la respuesta inmune a las citocinas multifuncionales (Zuo X, 2018). La IL-1 es una citocina endógena involucrada en la respuesta inmune y la inflamación, incluye a IL-1 α , IL-1 β y al receptor antagonista IL-1Ra codificado por IL-1RN (Yu Y, 2019). La IL-1 β es producida por monocitos, macrófagos y las células epiteliales las cuales están involucradas en diversos procesos, como la modificación de la respuesta del hospedero a la

invasión microbiana, la lesión tisular y la inflamación. La IL-1 β participa en la inflamación, pero lo que es más importante, induce la expresión de genes proinflamatorios, como la ciclooxigenasa tipo 2, la óxido nítrico sintasa inducible y otras citocinas/quimiocinas. Los estudios actuales se enfocan principalmente en la asociación entre los polimorfismos del gen IL-1 β (Zuo X, 2018).

3.10 Polimorfismos de un solo nucleótido

Las enfermedades tienen orígenes multifactoriales, surgen como resultado de la interacción de múltiples variantes genéticas y diversos factores ambientales.

La genética molecular genera la posibilidad de descifrar las interacciones múltiples entre variantes genéticas relacionadas con un mayor riesgo de desarrollar afecciones complejas. Actualmente la atención se ha concentrado en los Polimorfismos de un Solo Nucleótido (del inglés Single Nucleotide Polymorphisms, SNP), cuya frecuencia aproximada es de 1 en cada 1,000 pb y representan el tipo de variación más abundante en las poblaciones humanas (Hernández-Romano J, 2009).

Un SNP en regiones codificantes puede representar un cambio en la secuencia de una proteína, y con ello alterar su función, o bien puede no cambiar su secuencia, por ejemplo, el polimorfismo en la región reguladora del gen de la citocina puede alterar su nivel de expresión asociado con la respuesta inmune (Hernández-Romano J, 2009). Si solo el 1.5% del genoma codifica para proteínas, actualmente se calcula que solo el 5% del genoma es importante de manera funcional, debido a su secuencia conservada.

La variación fenotípica es el resultado de la regulación de la expresión. El estudio de la expresión genética a escala genómica establece la variación de la expresión genética entre una persona y otra como un fenómeno común vinculado al fenotipo.

3.11 Equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE)

Define el estado genético de una población mendeliana cuando se excluyen todos los factores que cambian las frecuencias de la población. Es el estado de fuerzas cero (Barbadilla, 2021). La distribución de frecuencias genotípicas y alélicas permanecen invariables en el tiempo (Figura 2) (Barbadilla, 2021).

- La constancia o equilibrio de las frecuencias se debe al carácter conservativo y regular de la transmisión mendeliana.
- La primera ley de Mendel, la de la segregación equitativa de los alelos de un heterocigoto, al no favorecer a ninguno de los alelos en la segregación, mantiene constante las frecuencias alélicas de una población infinita.
- El apareamiento al azar, sobreañadido a la segregación 1:1 de los heterocigotos, mantiene en equilibrio las frecuencias genotípicas.

Demostración de la ley de Hardy-Weinberg

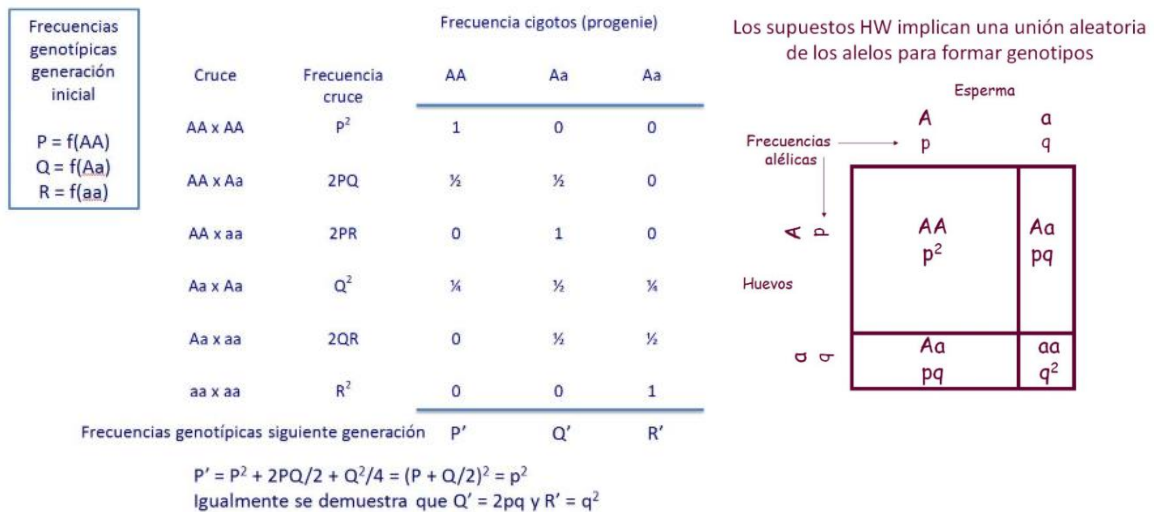


Figura 2. Representación descriptiva del Equilibrio de Hardy-Weinberg. Barbadilla, A. (02 de Agosto de 2021). Genetica de poblaciones. Obtenido de Genetica de poblaciones: <http://bioinformatica.uab.es/base/base3.asp?sitio=geneticapoblaciones&anar=concep&item=Hardy-Weinberg>

3.12 Razón de momios

La razón de momios (RM) del inglés Odds ratio (OR) es una medida de que tan fuertemente un evento está asociado con una exposición. La RM es una razón de dos conjuntos de probabilidades: La probabilidad del evento ocurrido en un grupo expuesto contra la probabilidad del evento ocurrido en un grupo no expuesto. Es utilizada comúnmente para reportar estudios de casos y controles. Y ayuda a identificar de que una exposición conduzca a un evento específico. Cuanto mayor sea la RM, mayores probabilidades de que el evento ocurra con la exposición, mientras que si es menor a uno implica que el evento tiene menos probabilidad de ocurrir con la exposición. Ver ejemplo en tabla 3 (Tenny, 2021).

		Event	
		Yes	No
Exposure	Yes	a	b
	No	c	d

$$\text{Odds Ratio} = \frac{\text{odds of the event in exposed group}}{\text{odds of the event in non-exposed group}}$$

$$\text{Odds Ratio} = \frac{a/b}{c/d} = \frac{ad}{bc}$$

$$\text{Upper 95\% CI} = e^{\ln(\text{OR}) + 1.96 \sqrt{(1/a) + (1/b) + (1/c) + (1/d)}}$$

$$\text{Lower 95\% CI} = e^{\ln(\text{OR}) - 1.96 \sqrt{(1/a) + (1/b) + (1/c) + (1/d)}}$$

Figura 3. Tabla 2x2 con cálculos para la razón de Momios y un intervalo de confianza para la razón de momios (Tenny, 2021).

4. Justificación

En la actualidad sabemos que la gota es una patología que surge por múltiples causas, donde el factor genético ha cobrado mayor relevancia en los últimos años; sin embargo, aún se desconocen los SNPs que están asociadas en el desarrollo de esta enfermedad. En particular se sabe por otras poblaciones que las variaciones genéticas involucradas en el inflammasoma están asociadas con la gota, pero se desconoce la relevancia de los mismo en la población mexicana, debido al amplio mestizaje en nuestro país.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Identificar la asociación del SNP rs1143623 del gen IL-1 β con el desarrollo de la gota.

5.2 Objetivos específicos

- Generar una cohorte de estudio de 486 pacientes los cuales sean 243 con un diagnóstico diferencial de gota y 243 que funjan como controles para la identificación de SNP.
- Obtener muestras biológicas (biobanco de ADN) con rendimientos satisfactorios de material genético para la detección de los SNP presentes en el inflammasoma.
- Obtener la discriminación alélica de las muestras de los participantes en el estudio.
- Determinar la asociación del SNP rs1143623 del gen IL1- β en el riesgo a desarrollar gota.

6. Métodos

6.1 Reclutamiento de pacientes.

Este proyecto fue Aprobado por el Comité de Investigación del Instituto Nacional de Rehabilitación, con el número 16/16 (consultar anexos). El reclutamiento de pacientes se realizó en el área de urgencias del Instituto, en la cual se invitó a los pacientes con sospecha de gota, donde fueron valorados y diagnosticados por médicos reumatólogos de la unidad, mediante el uso de la técnica de ultrasonido y parámetros clínicos.

Una vez que se obtuvo la aprobación de cada uno de los participantes, se realizó su inclusión al protocolo, mediante el uso de un consentimiento informado (consultar Anexos), seguido de una toma de muestra sanguínea de la cual se aislaron leucocitos para la obtención del ácido desoxirribonucleico (DNA), el ácido ribonucleico (RNA), para generar el estudio.

- **Criterio de Inclusión**

Para todos los grupos se incluyeron a hombres y mujeres mayores de 18 años que aceptaron participar y firmaron el consentimiento informado. Se realizó una evaluación clínica por el personal médico y se generó una batería química diagnóstica.

- **Criterios de exclusión**

Se excluyeron a todos aquellos pacientes que presentaron un diagnóstico de otras enfermedades crónicas de carácter autoinmune.

- **Criterios de eliminación**

Participantes que pidieron su retiro voluntario del estudio, después de haber firmado el consentimiento inicial.

Participantes con muestras que hayan presentado contaminación o insuficientes.

- **Consideraciones éticas**

El proyecto fue planteado con base a las normas Internacionales, Nacionales e Institucionales para la conducción de proyectos de investigación en humanos. El proyecto cumple la Declaración de Helsinki y con los lineamientos del Comité de Ética del INR.

6.2 Procesamiento de muestras

Una vez que el paciente acepto y firmo el consentimiento informado, se procedió a la extracción del fluido sanguíneo, se obtuvieron 6 mL en Tubos BD Vacutainer® que contenían anticoagulante (EDTA K₂ aplicado por aspersion en las paredes del tubo) para la obtención de leucocitos, adicionalmente se obtuvieron 4mL de sangre en un Tubo BD Vacutainer® SST™ adicional para Suero con Gel Separador el cual contenía un activador de coagulación aplicado por aspersion en la pared del tubo, para la obtención de suero. Se vertió el contenido de los Tubos BD Vacutainer® a un tubo falcón de 15 mL, al cual se agregaron posteriormente 4 mL de Buffer de lisis (QIAGEN), las muestras fueron refrigeradas a 4 °C durante 10 minutos, en dicho periodo se sometieron a vortex en dos ocasiones cada 5 minutos antes de ser centrifugadas.

Se centrifugaron los tubos falcón que contenían la sangre y el buffer de lisis por 10 minutos a 3000 x g, posteriormente se procedió a retirar el exceso de reactivo y se agregó 1 mL más de Buffer de lisis a la nueva solución, se colocó nuevamente a refrigeración por 10 minutos, en los cuales las muestras se sometieron a vortex en dos ocasiones más, una cada 5 minutos. Posteriormente se llevó a centrifugación a 3000 x g por 10 minutos, lo cual genero la aparición de un pellet de células blancas. Se agregaron 500 µL de Buffer, al pellet para retirar los excedentes de células rojas, esta mezcla se centrifugo a 400 x g por 5 minutos y se procedió a retirar el excedente, se repitió el mismo procedimiento dos veces más con la finalidad de obtener una muestra con alta pureza de leucocitos.

La muestra de sangre colectada en el Tubo BD Vacutainer® SST™ se mantuvo por un periodo de una hora a temperatura ambiente, para obtener la formación de un coagulo y una mejor separación de fases, después fue centrifugada por 5 minutos a 3500 x rpm, para obtener la separación y obtención del suero, el cual fue colocado en 3 tubos Eppendorf con los siguientes volúmenes 200 µL, 1 mL y sobrenadante, los cuales fueron utilizados para realización de pruebas bioquímicas de 4 elementos (triglicéridos, glucosa, AU y colesterol).

6.3 Extracción de DNA

Para la extracción de DNA se utilizó el Kit comercial Quick-DNA Miniprep Plus Kit Zymo Research, con número de catálogo D4068&D4069 (Appendix C, Nucleated Blood Samples).

Se tomó un alícuota equivalente a 0.5 gr de leucocitos, obtenidos de la sangre extraída anteriormente, a la cual se le agregó un volumen de 200 μL de Biofluid&Cell Buffer junto a 20 μL de Proteinasa K, la mezcla fue sometida a vortex por 15 segundos, posteriormente fue incubada durante 10 minutos a una temperatura de 55 $^{\circ}\text{C}$, se agregaron adicionalmente 220 μL del Genomic Bindin Buffer y fue sometida nuevamente a vortex por 15 segundos. El volumen total fue transferido a una columna Zymo-Spin II-XL Colum, la cual se sometió a centrifugación por 1 minuto a 12000 x g, se realizó posteriormente la decantación del líquido presente en el tubo colector.

Se realizó un cambio de tubo y se agregaron 400 μL de DNA Pre-Wash Buffer, el cual se sometió a centrifugación por 1 minuto a 12000 x g, se realizó la decantación del líquido sobrenadante de manera subsecuente. Se agregaron 700 μL de g-DNA Wash Buffer y fue llevado a centrifugación por 1 minuto a 12000 x g, posteriormente se decantó el líquido sobrenadante, secuencialmente se agregaron 200 μL más de g-DNA Wash Buffer, el cual fue centrifugado a 12000 x g por 1 minuto, finalmente se decantó el sobrenadante del tubo colector. Se rotulo un tubo Eppendorf para cada muestra, con una capacidad de 1.5 mL y se colocó en el interior de la columna Zymo-Spin II-XL Colum, se agregaron 50 μL de agua milli-Q libre de DNAsas y RNAsas, se dejó en incubación por 5 minutos con posterior proceso de centrifugación a 12000 x g por 1 minuto.

Una vez que se obtuvo el contenido total de la extracción, se cuantifico en el equipo Nanodrop para asegurar la integridad de sus características cuantitativas y cualitativas contenidas en la relación ng/ μL de solución. Tomando como un parámetro de integridad de 1.8-2 a una longitud de onda de 260/280 \wedge .

6.4 Selección del SNP rs1143623 del gen IL-1 β

El SNP fue seleccionado bajo los siguientes criterios: a) haber sido reportados en la literatura científica; b) estar validados por el proyecto de 1000 Genomes Project (Ensembl) y c) que la frecuencia del alelo menor en la población mexicana fuera mayor de 1% (Auton A, 2016).

6.5 Genotipificación y discriminación alélica

Para obtener la cuantificación de los SNPs se utilizó una concentración de DNA igual a 12.5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ y fue diluida en agua, con un cociente de 260/280 comprendido entre 1.8 y 2.

Se tomó un tubo eppendorf de 1.5 mL, en el cual se preparó una mezcla que contenía 2.5 μL por muestra de TaqMan $^{\circledR}$ Universal PCR Master Mix (*Applied BioSystems*) y 0.1 μL de Sonda TaqMan para la determinación del *SNP rs1143623 del gen IL1 β* (*Applied BioSystems*) se cubrió de forma adecuada con aluminio para evitar su degradación por fotosensibilidad, esto se realizó para la preparación de placas con 386 pozos o 96 pozos.

Para la preparación de las placas se agregaron en cada uno de los pozos, 2.6 μL que contenían la mezcla de TaqMan $^{\circledR}$ Universal PCR Master Mix (*Applied BioSystems*) y Sonda TaqMan para el *SNP rs1143623 del gen IL-1 β* (*Applied BioSystems*) hasta completar la placa sin dejar espacios vacíos, posteriormente, se agregaron 2.5 μL de cada una de las muestras obtenidas tanto de

pacientes con gota así como de controles en un orden adecuado, la carga en cada pozo tuvo un volumen igual a 5.1 μ L. Finalmente se agregó agua mili Q en 3 de los pozos usados como controles negativos.

Una vez que se completó la placa, ésta fue sellada con una película ultra transparente especial para PCR, posteriormente fue completamente cubierta para evitar degradación de los reactivos por fotosensibilidad y fue llevada a centrifugación a 500 x g por 5 minutos. La placa se analizó en el equipo StepOne & StepOnePlus Real-Time PCR Systems, el cual nos permitió medir el producto resultante de PCR mediante un sistema de oligonucleótidos marcados con fluorocromos. El equipo realizó una medición en unidades de fluorescencia que permitió claramente discriminar los alelos de los SNP estudiados. La genotipificación alélica de cada SNP se realizó mediante un programa de discriminación alélica (incluido en el equipo QuantStudio).

7. Análisis estadístico

Para realizar el análisis estadístico se utilizó el software STATA v14.0 (StataCorp, Texas USA). Este es un estudio de casos y controles; el análisis descriptivo se utilizó para las características clínicas y demográficas de los dos grupos, las diferencias significativas fueron evaluadas mediante la prueba de t-Student y los datos se reportaron como el promedio \pm la desviación estándar, rangos o porcentajes, cuando fue apropiado. La distribución del genotipo en los grupos de casos y controles se evaluó con las desviaciones del equilibrio de HWE; usando la prueba de Chi-cuadrada con un grado de libertad. Las frecuencias alélicas y genotípicas fueron estimadas y comparadas entre los grupos usando la prueba exacta de Fisher. Para estimar la asociación entre los genotipos del SNP rs1143623 del gen IL-1 β se realizó un análisis usando un modelo de regresión logística; los resultados fueron estimados mediante la RM con un intervalo de confianza del 95%. El análisis fue ajustado por el sexo de los participantes, tomando en cuenta el modelo de herencia codominante. Se consideró como significativo una $P \leq 0.05$.

8. Resultados

8.1 Descripción de la población de estudio

El estudio incluyó 463 individuos de 20 estados diferentes, de los cuales el 68% pertenecen a la zona centro del país (Querétaro, Hidalgo, Ciudad de México, México, Tlaxcala y Morelos), todos los sujetos incluidos en el estudio tenían padres y abuelos nacidos en el estado de reclutamiento. La descripción de la población y los valores de P se enlistan en la Tabla 1. El promedio de la edad era mayor en el grupo de los casos comparado con el grupo control (52.08 ± 12.72 vs 44.32 ± 8.37 , respectivamente). La mayor parte de la población analizada eran hombres en ambos grupos (98% en los controles y 95% en la población de casos). Los parámetros antropométricos y bioquímicos de la población muestran que los pacientes con gota tenían un Índice de Masa Corporal (IMC) mayor que el de los individuos sanos (28.71 ± 4.3 vs 26.67 ± 2.70 , respectivamente). De igual forma se observó que el AU (6.87 ± 2.21 vs 5.43 ± 1.00 , respectivamente), el colesterol (171.7 ± 37.61 vs

158.7±37.37, respectivamente) y los triglicéridos (204.7±134.8 vs 137.0±51.57, respectivamente) son mayores en los pacientes comparado con los pacientes de gota que en los individuos sanos, mientras que en que los niveles séricos de glucosa no se encontró diferencia.

Tabla 1: Descripción de la población de estudio para el SNP rs1143623

Población de estudio n= 463			
Variable	Casos (%) n = 220 (47.52)	Controles (%) n = 243 (52.48)	Valor P
Genero (%)			
Masculino	208 (98)	199 (95)	0.157
Femenino	4 (2)	11 (5)	
Edad (años)	52.08±12.72	44.32±8.37	<0.0001*
Peso (kg)	79.52±14.87	76.60±10.32	0.0119*
Talla (m)	1.68±0.07	1.69±0.07	0.0004
IMC (kg/m ²)	28.71±4.31	26.67±2.70	<0.0001*
Ácido Úrico (mg/dl)	6.87±2.21	5.43±1.00	<0.0001*
Glucosa (mg/dl)	97.90±18.91	99.99±34.56	0.0587
Triglicéridos (mg/dl)	204.7±134.8	137.0±51.57	<0.0001*
Colesterol (mg/dl)	171.7±37.61	158.7±37.37	0.0007*
IMC: Índice de Masa Corporal.			
* Valor de P obtenido de la prueba de U de Mann-Whitney			
El texto en negritas denota significancia estadística			

8.2 Frecuencias genotípicas y alélicas.

El análisis estadístico del SNP rs1143623 del gen IL-1 β está basado en la estimación de la prevalencia de cada alelo en la población y haciendo la estimación para cada genotipo posible. Para estimar las frecuencias genotípicas, se calculó la tasa observada de los genotipos. La tabla 2 muestra las frecuencias genotípicas en nuestra población de estudio (casos y controles) tanto por número de individuos por genotipo además de las proporciones por cada uno de ellos.

Tabla 2: Frecuencias genotípicas del SNP rs1143623

Genotipo	Población total (n=493)		Controles		Gota	
	Individuos	Proporción	individuos	Proporción	Individuos	Proporción
C/C	85	0.19	53	0.23	32	0.16
G/C	191	0.44	104	0.44	87	0.43
G/G	163	0.37	78	0.33	85	0.42
NA	24		8		16	
n, población analizada; NA, población indeterminada.						

Respecto al alelo de menor frecuencia de la variante rs1143623 (C), se encontró mayormente representado en el grupo de los controles (45%) respecto al grupo de pacientes con gota (37%) (Tabla 3).

Tabla 3. Frecuencias alélicas en la población de estudio.

Genotipo	Población total (n=493)		Controles		Gota	
	Individuos	Proporción	Individuos	Proporción	Individuos	Proporción
G	517	0.59	260	0.55	257	0.63
C	361	0.41	210	0.45	151	0.37
n, población analizada						

8.3 Regresión logística multivariada por genotipos y alelos.

Para determinar la asociación entre el SNP y la enfermedad, el análisis del SNP rs1143623 del gen IL-1 β se realizó a través de tres modelos de herencia (codominante, dominante y recesivo) ajustado por la variable género. El SNP se encuentran en EHW tanto en el grupo controles ($P=0.11$) como en el de gota ($P=0.23$) (Tabla 4).

8.3.1 Modelo Codominante

Este es el modelo general y permite que cada genotipo otorgue un riesgo diferente y no aditivo. Este modelo compara los genotipos del heterocigoto (C/G) y el homocigoto (C/C) del alelo de menor frecuencia (C) con los homocigotos para del alelo más frecuente (G/G). Se estima dos RM, uno para el heterocigoto y otro para la variante. El análisis muestra que la presencia del genotipo homocigoto C/C confiere una disminución en el riesgo de presentar la enfermedad con una RM= 0.53, como se muestra en la tabla 4.

8.3.2 Modelo Dominante

Este modelo demuestra que una simple copia del alelo de la variante C (alelo de menor frecuencia) es suficiente para modificar el riesgo, por lo tanto, el heterocigoto y el homocigoto tendrían el mismo riesgo de padecer la enfermedad. Además, se puede comparar la combinación de estos dos posibles genotipos C/G-C/C (Dominante) para el homocigoto G/G. El análisis muestra que en el SNP rs1143623 el modelo C/G+C/C se encontró mayormente representado en el grupo control, pero no mostró diferencia significativa y ($P=0.067$).

8.3.3 Modelo Recesivo

Este modelo muestra que dos copias de C son necesarias para modificar el riesgo a padecer gota. Además, los genotipos C/G y G/G tendrían el mismo efecto. Una combinación de ambos G/G+C/G (recesivo) es comparado con el genotipo homocigoto de la variante del alelo menor C/C. En este

modelo, se observó que el genotipo homocigoto para el alelo menor C/C del SNP rs1143623 se encuentra en mayor proporción en el grupo control y se asoció de manera negativa con la enfermedad, es decir, se encontró asociada a protección (RM= 0.58, $P= 0.03$). Se resalta además que en el modelo de herencia codominante se observó que la presencia del genotipo homocigoto C/C también confiere una disminución en el riesgo de presentar la enfermedad.

Tabla 4: Asociación del SNP rs1143623 con la enfermedad (n=399, ajustado por genero).

Modelo	Genotipo	Controles	Gota	RM (95% IC)	Valor P
Codominante	G/G	67(33.2%)	81(41.1%)	1	0.081
	C/G	88(43.6%)	86(43.6%)	0.83 (0.53-1.29)	
	C/C	47(23.3%)	30(15.2%)	0.53 (0.30-0.93)	
Dominante	G/G	67(33.2%)	81(41.1%)	1	0.12
	C/G-C/C	135(66.8%)	116(58.9%)	0.72 (0.48-1.09)	
Recesivo	G/G-C/G	155(76.7%)	167(84.8%)	1	0.037
	C/C	47(23.3%)	30(15.2%)	0.58 (0.35-0.97)	
EHW Valor de P		0.11	0.23		
RM, razón de momios; EHW, equilibrio de Hardy-Weinberg El texto en negritas denota significancia estadística					

9. Discusión de resultados

En una revisión preliminar de la literatura, se evidenció la falta de estudios en el campo de las variaciones genéticas y gota en la población de América Latina, hasta donde conocemos este es el primer estudio que explora la asociación de los SNP dentro de los genes del inflammasoma NLRP3 y el riesgo de gota en una cohorte de población mexicana.

Es bien conocido que alrededor del 10% de los individuos que presentan hiperuricemia tienen al menos un ataque de gota (Mandal AK, 2014), caracterizado principalmente por la presencia de inflamación, pero los factores involucrados en esta respuesta no están completamente descritos. La activación del inflammasoma NLRP3 tiene relevancia en la enfermedad de la gota porque desencadena la hinchazón e inflamación mediada por el reconocimiento de MSU principalmente en células dendríticas y fagocíticas (Mogensen, 2009).

En este estudio se analizó el SNP rs1143623 del gen de IL-1 β , el cual se genera como resultado de la activación de la vía de señalización del inflammasoma NLRP3. Previamente este SNP se ha descrito en la literatura por su asociación con el riesgo de gota en la población europea y polinesia de Nueva Zelanda como lo ha reportado el grupo de McKinney (McKinney C, 2015), además este SNP se ha reportado asociado a otras enfermedades (Zuo X,2018, Yu Y, 2018, Hernández-Romano J, 2009).

El análisis de este estudio de cohorte muestra que el IMC, el AU y los triglicéridos fueron significativamente diferentes entre los grupos de estudio, en el grupo de gota fueron más altos en comparación con los sujetos control sanos (Tabla 1), estos datos confirman que el síndrome metabólico es característico de la gota (González-Senac NM, 2014).

Nuestro análisis demostró que el polimorfismo rs1143623 del gen de IL-1 β está asociado positivamente con la gota. El análisis del modelo codominante (genotipo C/C) y el recesivo (genotipo C/C) ajustado por el sexo, muestra que el rs1143623 es un SNP de protección para la población mexicana [RM (95% IC) = 0.53 (0.30-0.93), 0.58 (0.35-0.97), respectivamente]. McKinney et al. demostró que el SNP rs1143623 tiene una asociación alélica nominal para el alelo G (RM= 1.10, $P= 0.020$) en las poblaciones combinadas europea y polinesia de Nueva Zelanda, describiendo que el alelo G es de riesgo para esta población (McKinney C, 2015).

Las limitaciones de este estudio son el tamaño de la población analizada que no permite tener resultados concluyentes. Además, se necesita una cohorte que incluya a más regiones del país, y finalmente hacen falta estudios para la validación del SNP del gen rs1143623 del gen de IL-1 β para conocer las implicaciones en la estructura de las proteínas y en su correcta función. A pesar de estas limitaciones, nuestro estudio adquiere relevancia porque es de los primeros estudios hechos en la población mexicana que explora la participación de las variantes polimórficas de los genes de la vía de señalización del inflammasoma. Este estudio puede abrir nuevas fronteras de investigación que permita determinar el papel de los SNPs y su asociación con el diagnóstico oportuno de la gota.

10. Conclusión

En conclusión, nuestros datos sugieren que el rs1143623 del gen de IL-1 β es un SNP de protección para el desarrollo de la gota en la población mexicana, lo cual en un futuro junto con un perfil genético podría servir como un marcador en el diagnóstico oportuno de la gota.

11. Referencias

Auton, A., Brooks, L. D., Durbin, R. M., et al, (2015). A global reference for human genetic variation. *Nature*, Vol:526, No.7571, págs:68–74.

Barbadilla, A (1999, 2010) La genética de poblaciones (<http://bioinformatica.uab.es/divulgacio/genpob.html>)

Denning, NL., Aziz, M., Gurien, SD., et al, (2019). DAMPs and NETs in Sepsis. *Frontiers in immunology*, Vol: 10, págs: 2536.

Drivelegka, P., Sigurdardottir, V., Svärd, A., et al, (2018). Comorbidity in gout at the time of first diagnosis: sex differences that may have implications for dosing of urate lowering therapy. *Arthritis research & therapy*, Vol:20, págs. 1:108

González-Rozas, M., Prieto, J.M., Franco, S., et al, (2012). Gota tofácea crónica. *Medicina de familia SEMERGEN*, 6, Vol: 39. Núm. 6. págs.: 29-34.

González-Senac, N. M., Bailén, R., Torres, R. J., et al, (2014). Metabolic syndrome in primary gout. *Nucleosides, nucleotides & nucleic acids*, Vol: 33, No.4-6, págs: 185–191.

Hernández-Romano, J., Martínez-Barnette, J., Valverde-Garduño, V., (2009), Polimorfismos reguladores y su participación en la patogenia de enfermedades complejas en la era posgenómica. *Salud Publica Mex*, Vol: 510.

Jameson JL, S. F. (2018). *Harrison. Principios de Medicina Interna*. Ciudad de México: McGraw-Hill Global Education Holdings LLC.

Mandal, A. K., & Mount, D. B. (2015). The molecular physiology of uric acid homeostasis. *Annual review of physiology*, Vol: 77, págs.: 323–345.

McKinney, C., Stamp, L. K., Dalbeth, N., et al, (2015). Multiplicative interaction of functional inflammasome genetic variants in determining the risk of gout. *Arthritis research & therapy*, Vol:17, No. 288.

Mogensen T. H. (2009). Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. *Clinical microbiology reviews*, Vol: 22, No.2

Robinson PC., (2018). Gout – an update of aetiology, genetics, co-morbidities and management. *Maturitas*, Vol: 118, págs.: 67-73.

Peláez-Ballestas I., Sanin LH., Moreno-Montoya J., et al, (2011). Epidemiology of the rheumatic diseases in Mexico. A study of 5 regions based on the COPCORD methodology. *J Rheumatol Suppl*. Vol:86, págs: 3-8.

Perez-Ruiz F., Urionaguena I., Carmona-Ortells L., (2016). Epidemiology and health-related services. *Current Opinion in Rheumatology*, Vol: 28, pág: 104-109

Prevencion, diagnostico, tratamiento y referencia oportuna de hiperuricemia y gota. (2009). *Guia de practica Clinica*, 38.

Ruiz P., (2020). *Guía de Práctica Clínica para el Manejo de Pacientes con Gota*. Sociedad Española de Reumatología., 212.

Szekanecz Z., Szamosi S., Kovács GE, Kocsis E., et al., (2018). The NLRP3 inflammasome-interleukin 1 pathway as a therapeutic target in gout. *Arch Biochem Biophys*, Vol:670, págs:82-93.

Tenny, S., & Hoffman, M. R. (2021). Odds Ratio. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

Yu, Y., Zhang, Y., Wu, J., et al, (2019). Genetic polymorphisms in IL1B predict susceptibility to steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in Chinese Han population. *Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, Vol:30, No. 4, págs: 871–877.

Zuo, X., Li, M., Yang, Y., et al, (2017). Interleukin gene polymorphisms in Chinese Han population with breast cancer, a case-control study. *Oncotarget*, Vol: 9, No. 26, Págs:17994–18001.

12. Anexos

12.1 Aprobación por el Comité de Investigación del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra



INR/CI/099/16

Ciudad de México a 23 de Mayo 2016.

D en C. María del Refugio Denise Clavijo Cornejo
Investigador responsable.
Presente.

En respuesta a la solicitud que usted amablemente envió a este comité para la revisión del proyecto de investigación titulado **“Interactoma de las variantes génicas del transportasoma e inflamasoma como biomarcadores pronósticos de la gota.”**

Le informo que el Comité de Investigación decidió aprobarlo otorgándole registro definitivo **16 /16**

Estatus del proyecto: **APROBADO**

Investigador
Responsable: **María del Refugio Denise Clavijo Cornejo**

Participantes:
Carlos Javier Pineda Villaseñor Alberto Gabriel López Reyes
Javier Fernández Torres Gabriela Aurora Hernández Molina
Marina Rull Gabayet

Cabe señalar, que de acuerdo con los datos declarados en el **cronograma de actividades del proyecto de investigación**, éste tiene una **vigencia de 24 meses**; siendo la fecha de termino **31 de Mayo de 2018**, es requisito informar los avances del mismo cada 6 meses, en el formato F01-PR-DI-04 Seguimiento de Protocolos, el cual se encuentra disponible en la página electrónica del INR, así como cualquier otro asunto relacionado con el mismo.

No omito comentar que en el caso de los protocolos que incluyan pacientes, un requisito adicional de la Dirección de Investigación es dar cumplimiento a la Encuesta de Satisfacción de Pacientes en protocolo F01-PR-DI-08 que se encuentra disponible en la página del INR en la Sección de Documentos ISO en el apartado de Investigación. <http://iso9001.inr.gob.mx/Descargas/iso/Formatos/F01-PR-DI-08.doc>.

En caso de ser un protocolo con financiamiento de la industria éste deberá contar con convenio administrativo el cual debe ser sancionado por el área jurídica de este Instituto.

1/2



Hospital Certificado:
Consejo de Salubridad General
2012-2015



División de Rehabilitación Ortopédica
Centro Colaborador de la OPS/OMS para
la Investigación y Rehabilitación Médica
2011-2015



Certificado ECMX-0540/09
ISO 9001:2008
2012-2015

Calz. México-Xochimilco No. 289, Col. Arenal de Guadalupe, C.P. 14389, Delegación Tlalpan, México, D.F.
Tel.: (55) 5999 1000 www.inr.gob.mx

INR/CI/099/16

Ciudad de México a 23 de Mayo 2016.

D en C. María del Refugio Denise Clavijo Cornejo
Investigador responsable.
Presente.

En respuesta a la solicitud que usted amablemente envió a este comité para la revisión del proyecto de investigación titulado **"Interactoma de las variantes génicas del transportasoma e inflamasoma como biomarcadores pronósticos de la gota."**

Le informo que el Comité de Investigación decidió aprobarlo otorgándole registro definitivo **16 /16**

Estatus del proyecto: **APROBADO**

Investigador
Responsable: **María del Refugio Denise Clavijo Cornejo**

Participantes:

Carlos Javier Pineda Villaseñor	Alberto Gabriel López Reyes
Javier Fernández Torres	Gabriela Aurora Hernández Molina
Marina Rull Gabayet	

Cabe señalar, que de acuerdo con los datos declarados en el **cronograma de actividades del proyecto de investigación**, éste tiene una **vigencia de 24 meses**; siendo la fecha de termino **31 de Mayo de 2018**, es requisito informar los avances del mismo cada 6 meses, en el formato F01-PR-DI-04 Seguimiento de Protocolos, el cual se encuentra disponible en la página electrónica del INR, así como cualquier otro asunto relacionado con el mismo.

No omito comentar que en el caso de los protocolos que incluyan pacientes, un requisito adicional de la Dirección de Investigación es dar cumplimiento a la Encuesta de Satisfacción de Pacientes en protocolo F01-PR-DI-08 que se encuentra disponible en la página del INR en la Sección de Documentos ISO en el apartado de Investigación. <http://iso9001.inr.gob.mx/Descargas/iso/Formatos/F01-PR-DI-08.doc>.

En caso de ser un protocolo con financiamiento de la industria éste deberá contar con convenio administrativo el cual debe ser sancionado por el área jurídica de este Instituto.

1/2



Hospital Certificado:
Consejo de Salubridad General
2012-2015



División de Rehabilitación Ortopédica
Centro Colaborador de la OPS/OMS para
la Investigación y Rehabilitación Médica
2011-2015



Certificado ECMX-0540/09
ISO 9001:2008
2012-2015

Calz. México Xochimilco No. 289, Col. Arenal de Guadalupe, C.P. 14389, Delegación Tlalpan, México, D.F.
Tél.: (55) 5999 1000 www.inr.gob.mx

12.2 Consentimiento informado



Instituto Nacional de Rehabilitación
Luis Guillermo Ibarra Ibarra



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

INVITACIÓN Lugar: A ____ de ____ de ____

Estimado Sr.(a) _____

El Instituto Nacional de Rehabilitación "Luis Guillermo Ibarra Ibarra" le invita a participar en la investigación médica titulada "**INTERACTOMA DE LAS VARIANTES GÉNICAS DEL TRANSPORTASOMA E INFLAMASOMA COMO BIOMARCADORES PRONÓSTICOS DE LA GOTA**" que tiene como objetivo identificar posibles biomarcadores de predicción y diagnóstico de la gota. La duración del estudio será por dos años y participarán aproximadamente 500 personas de la población Mexicana.

Tomé el tiempo que sea necesario para leer este documento y acuda al investigador en caso de duda o comentario.

INTRODUCCIÓN

Este consentimiento informado cumple con los lineamientos establecidos en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud, la Declaración de Helsinki y a las Buenas Prácticas Clínicas emitidas por la Comisión Nacional de Bioética.

Este formato de consentimiento informado contiene información detallada acerca del estudio de investigación, para que usted tenga el conocimiento necesario para tomar una decisión cuando se le pida que sea parte del proyecto. Finalmente se le invitará a firmar este consentimiento informado bajo ninguna presión o intimidación.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

El Instituto Nacional de Rehabilitación "Luis Guillermo Ibarra Ibarra" (INRLGII) realiza investigación biomédica relacionada con enfermedades musculoesqueléticas y reumáticas que son consideradas como causas de discapacidad en México. La gota está definida como una artropatía microcristalina que es causada por el aumento de ácido úrico en la sangre que lleva a la depósito de cristales de urato monosódico en las articulaciones y tejidos blandos. Por lo tanto el objetivo de este estudio es identificar biomarcadores predictivos del desarrollo de gota en población Mexicana, asociando y comparando las variantes génicas de los transportadores de ácido úrico así como marcadores de inflamación en pacientes con gota en comparación con un grupo control.

Su participación en el estudio consiste en la donación de una única muestra de sangre que será tomada por su médico tratante en condiciones o no de ayuno en el INRLGII y el llenado de un cuestionario breve. Se debe mencionar que no se modificarán ni la alimentación ni la toma de medicamentos o la actividad física rutinaria ni de los sujetos con gota ni los sujetos que formen parte del grupo control.

RIESGOS E INCONVENIENTES

De acuerdo al Art. 21, fracción III Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud señala que la obtención de la muestra biológica está considerado como de riesgo mínimo para las personas que se encuentren en el estudio. Los principales riesgos de la toma de muestra sanguínea son: posibilidad de sangrado ligero o moretón en el sitio de la punción, mareo o sensación de desmayo y raramente puede producirse punción arterial. Sin embargo, el instituto cuenta con personal capacitado para la toma de las muestras lo que minimizará complicaciones y riesgos.

Como estipula la ley, hacemos constar que tanto las muestras como la información

proporcionada no tendrá otro uso que no sea exclusivamente para fines de la investigación.

BENEFICIOS POTENCIALES

Este estudio no está diseñado para beneficiarle directamente. Sin embargo, la identificación de biomarcadores predictivos del desarrollo de gota en población Mexicana, beneficiará potencialmente a sujetos predispuestos a desarrollar esta enfermedad, esto ayudará a disminuir la incidencia de esta complicación médica en nuestra población.

CONSIDERACIONES ECONÓMICAS

En este estudio usted no recibirá ninguna remuneración económica pero de igual manera usted no hará ningún pago durante todo el estudio médico. Si existen gastos adicionales relacionados con la investigación, estos serán absorbidos por la misma.

PARTICIPACIÓN Y RETIRO DEL ESTUDIO:

Su participación es totalmente voluntaria y altruista y podrá retirarse cuando usted así lo decida. Si usted decide no participar, no se verá demeritada la calidad de la atención que recibe en el Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra.

El investigador encargado del estudio puede excluirlo del estudio si usted no tiene ancestría mexicana (abuelos y padres nacidos en México). También se excluirán pacientes con presencia de alguna enfermedad autoinmune concomitante con la gota como la artritis reumatoide y lupus eritematoso sistémico y/o la presencia de artropatías microcristalinas y metabólicas asociadas a la gota como la enfermedad por depósito de cristales de pirofosfato de calcio.

CONFIDENCIALIDAD Y MANEJO DE SU INFORMACIÓN

De acuerdo al Art. 21, fracción X del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud se garantiza que su nombre como participante no será usado en ninguno de los estudios y se mantendrá la confidencialidad de la información relacionada con su privacidad. Por disposición legal las muestras de sangre, son catalogadas como residuos peligrosos biológico-infecciosos y por esta razón durante el curso de la investigación su muestra no podrá serle devuelta. Si usted decide retirarse del estudio, podrá solicitar el retiro y destrucción de su material biológico y de su información. Es posible que sus muestras biológicas así como su información médica puedan ser usadas para otros proyectos de investigación análogos relacionados con la enfermedad. Las muestras serán codificadas para mayor seguridad y el acceso para su identificación serán accesibles solo para los investigadores titulares quienes están obligados por Ley a no divulgar su identidad. Monitores o auditores del estudio podrán tener acceso a la información de los participantes.

La Comisión de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Rehabilitación aprobaron la realización de éste estudio, este comité está encargado de revisar, aprobar y supervisar los estudios de investigación en humanos en el Instituto. Es importante solicitarle que nos autorice contactarlo nuevamente, en caso de ser necesario, para solicitarle información complementaria en el desarrollo de este proyecto. Los datos resultantes del estudio podrían ser utilizados en publicaciones o presentaciones médicas y científicas. Sin embargo, su nombre y otra información personal no serán incluidos .

IDENTIFICACIÓN DE LOS INVESTIGADORES:

En caso de dudas o comentarios, por favor póngase en contacto con la investigadora Dra. Denise Clavijo Cornejo, responsable del proyecto, al teléfono 5999-1000 ext. 19502, en un horario de 7:00 a 16:00 hrs o puede escribir directamente a la siguiente dirección de correo electrónico: mrclavijo@inr.gob.mx

De aceptar ser participe de este estudio, se le entregará un duplicado de este consentimiento informado.



DECLARACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo _____, he sido informado (a) sobre mi participación en el estudio de manera tanto verbal como por escrito y se me ha explicado de manera clara los detalles del estudio. He sido informado que puedo negarme a participar o terminar mi participación en cualquier momento del estudio sin que sufra penalidad alguna o pérdida de beneficios y no tengo ninguna duda respecto a la naturaleza y alcance de éste. Estoy enterado(a) de los motivos y los objetivos del estudio. Además, autorizo que mi muestra sea guardada en un banco de muestras en el Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra y sea utilizada en futuros proyectos de investigación asociados a este estudio médico. Estoy de acuerdo en donar de forma voluntaria mi muestra sanguínea para ser utilizadas en éste estudio. Estoy de acuerdo, en caso de ser necesario, que se me contacte en el futuro si el proyecto requiere complementar información adicional. Finalmente, declaro que es mi decisión participar en el estudio. Mi firma también indica que he recibido un duplicado de este consentimiento informado.

Nombre del Participante	Firma del Participante	Fecha

Nombre del representante legal (si aplica)	Firma del representante legal	Fecha

Nombre del Investigador	Firma del Investigador	Fecha

Nombre del Testigo 1	Firma del Testigo 1	Fecha

Relación con el participante: _____

Dirección: _____

Nombre del Testigo 2	Firma del Testigo 2	Fecha

Relación con el participante: _____

Dirección: _____

13. Vo.Bo.

Vo.Bo. de los asesores respecto a los contenidos académicos

Dr. Jorge Ismael Castañeda Sánchez

Profesor Investigador de Tiempo Completo

No. Económico: 37622



Dra. María del Refugio Denise Clavijo Cornejo

Investigador en Ciencias Médicas C

INRLGII